

EUROPEAN PATENT OFFICE

Patent Abstracts of Japan

PUBLICATION NUMBER : 57046922
PUBLICATION DATE : 17-03-82

APPLICATION DATE : 05-09-80
APPLICATION NUMBER : 55123089

APPLICANT : SS PHARMACEUT CO LTD;

INVENTOR : ODAKA YOSHICHIKA;

INT.CL. : A61K 37/48 A61K 9/08

TITLE : STABLE AQUEOUS LYSOZYME SOLUTION

ABSTRACT : PURPOSE: To prepare the titled aqueous solution which can be stored for a long period without precipitation, and is useful as an eye drop, etc., by adding a specific cationic surface active agent and dextrin or cyclodextrin to an aqueous solution of lysozyme free of impurities.

CONSTITUTION: An aqueous solution of crude lysozyme is heated at 40–60°C, and the precipitated impurities are removed. The purified lysozyme solution is stabilized by adding a cationic surface active agent of quaternary ammonium type (e.g. benzalkonium chloride) or of pyridinium type (e.g. cetylpyridinium chloride) and dextrin or cyclodextrin (pref. having a molecular weight of 4,000–6,000). The amounts of the surface active agent and dextrin, etc. are 0.001–0.1% and 0.1–1%, based on the whole composition, respectively.

COPYRIGHT: (C)1982,JPO&Japio

BEST AVAILABLE COPY

⑬ 日本国特許庁 (JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭57-46922

⑤ Int. Cl.³
A 61 K 37/48
9/08

識別記号

庁内整理番号
7138-4C
7057-4C

③ 公開 昭和57年(1982)3月17日

発明の数 1
審査請求 未請求

(全 4 頁)

⑭ 安定ナリゾチーム水溶液

⑯ 特 願 昭55-123089
⑯ 出 願 昭55(1980)9月5日
⑯ 発 明 者 村田豊
千葉市祐光1丁目24番9号ひかり荘6号
⑯ 発 明 者 岩佐曜
千葉県印旛郡四街道町鹿渡886

番16号

⑯ 発 明 者 相川広
茅ヶ崎市松浪2丁目8番11号
⑯ 発 明 者 小高愛親
市川市行徳駅前4丁目18番1号
⑯ 出 願 人 エスエス製薬株式会社
東京都中央区日本橋浜町2丁目12番4号
⑯ 代 理 人 弁理士 有賀三幸 外1名

明 細 書

1. 発明の名称

安定ナリゾチーム水溶液

2. 特許請求の範囲

1. リゾチーム水溶液を加熱処理して析出する不純物を除去したリゾチーム水溶液に、第4級アンモニウム系又はピリジニウム系の陽イオン界面活性剤及びデキストリン又はシクロデキストリンを添加したことを特徴とする安定ナリゾチーム水溶液。
2. 点眼剤である特許請求の範囲第1項記載の安定ナリゾチーム水溶液。
3. 陽イオン界面活性剤を加熱処理の前あるいは後の何れかに添加したものである特許請求の範囲第1項又は第2項記載の安定ナリゾチーム水溶液。

3. 発明の詳細な説明

本発明は安定ナリゾチーム水溶液、更に詳細には、リゾチーム水溶液を加熱処理して析出する不純物を除去したリゾチーム水溶液に、第4級アンモニウム系又はピリジニウム系の陽イオン界面活

性剤及びデキストリン又はシクロデキストリンを添加することにより得られる長期間保存しても析出物を生じないリゾチーム水溶液に関する。

リゾチームは広く生物体にか布存在しており、人や動物の組織、体液および分泌物中に含まれる溶菌作用を示すムコ多糖類分解酵素で、外界からの細菌、ウイルスの侵入に対して自然免疫の賦活をもつて生体を防護しているといわれている。そして、リゾチームは特に組織の修復、血管壁強化、ムコイド分解作用により消炎、出血抑制、感染防止等の広範囲の薬理効果を有するので、経口あるいは非経口的に臨床において広く使用されている。

しかしながら、リゾチームまたはその塩類を用いて製したリゾチーム水溶液は振盪したり、空気を通じて培養したりすると、リゾチームが一部不溶化して細状沈殿の浮遊物を生じ、リゾチームの失活をきたす。この現象は当該水溶液をたゞ長期間放置しただけでも認められる。これは、いわゆるリゾチームの界面変性に基く不溶化によるものと考えられており、これがリゾチーム水溶液を製

BEST AVAILABLE COPY

特開昭57-46922(2)

造する上で大きな障害となつていた。

従来から、斯る欠点を解決せんと多くの研究がなされ、例えば安定化剤として非イオン界面活性剤（特公昭41-11186号）、第4級アンモニウムまたはピリジニウム系陽イオン界面活性剤（特公昭48-24751号）、両性イオン界面活性剤（特公昭50-37759号）、ポリビニルアルコール（特公昭53-31798号）を添加する方法が報告されている。しかし、これらの方法も、 pH 、温度、リゾチームの濃度等によつて微妙な影響を受けるので必ずしも満足し得るものではない。

そこで、本発明者は斯る欠点を克服せんと研究を行い、デキストリン又はシクロデキストリンがリゾチームの表面活性を抑制する作用を有し、これらをリゾチーム水溶液に添加すると安定な水溶液が得られることを見出し、先に特許出願した（特開昭54-135215号）。

デキストリン又はシクロデキストリンの添加によつて、リゾチーム水溶液はかなりの期間安定に

保持されるが、製造時から長期間保存され、しかも使用時凝固して空気中に晒されてから更に一定期間使用される点眼剤等の場合には未だ充分とはいへなかつた。

斯る状況において、本発明者は更に研究を行つた結果、リゾチーム水溶液を予め加熱処理して析出する不純物を除去すること、安定化剤として、第4級アンモニウム系又はピリジニウム系の陽イオン界面活性剤及びデキストリン又はシクロデキストリンを組合せて添加することにより長期間にわたつて極めて安定なリゾチーム水溶液が得られることを見出し、本発明を完成した。

従つて、本発明は医薬用、特に点眼用に適した新規なリゾチーム水溶液を提供するものである。

本発明の安定なリゾチーム水溶液は次の如くして製造される。先ず、一般に市販されているリゾチーム又はその塩類を、好ましくは1〜5%になるように水に溶解し、これを加熱処理する。加熱処理は40〜60℃の温度で、約1時間行うのが好ましい。60℃以上で長時間加熱処理すると、

リゾチーム又はその塩が変性されて析出するおそれがあるので、好ましくない。斯くして得られる析出物はメンブランフィルター、濾紙、ガラスフィルター等によつて除去される。安定化剤として添加される陽イオン界面活性剤としては、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム等の第4級アンモニウム系；塩化セチルピリジニウム等のピリジニウム系のものが挙げられ、これらは単独又は2種以上を全組成の0.01〜0.1%になるように加えるのが好ましい。

また、デキストリン及びシクロデキストリンとしては、分子重4,000〜6,000のものが好ましく、これらは単独又は2種以上を全組成の0.1〜1%になるように加えるのが好ましい。尚これらを1%以上添加してもそれ以上の効果の増大はみられない。

陽イオン界面活性剤は、上記加熱処理の前あるいは後の何れの段階で添加してもよく、デキストリン及びシクロデキストリンは加熱処理後の水溶液に添加するのが好ましい。

上記の如くして得られた安定なリゾチーム水溶液は、更にその目的に応じた他種成分、例えば、緩衝剤、等張化剤及び増粘剤等を配合することもできる。

斯くして得られた本発明のリゾチーム水溶液は、長期間保存しても浮遊物、沈殿物を生じないため、リゾチームを配合した医薬品、特に点眼剤として有用である。

以下、更に実施例を挙げて説明する。

実施例 1

塩化リゾチーム0.5gを全量25mlになるように精製水に溶解し、リゾチーム水溶液を調製した。このリゾチーム水溶液を50℃でマグネチック・スターラーを用いゆつくりと攪拌しながら1時間加熱処理し、析出物をメンブランフィルターで除去した。これに塩化ナトリウム0.6g、ホウ酸1.0g、ホウ砂適量（ pH 調整）およびデキストリン0.5g、グルコン酸クロルヘキシジン（保存剤）0.01gを溶解し、精製水で全量100ml（ pH 5.0）とし、試料1とした。

第 1 表

前 処 理		加熱維持試験 (時)				振盪維持試験
		24	48	72	96	
加 熱	55℃	—	—	±	+	+
苛性ソーダ	pH 8	±	±	+	+	#
・	pH 9	±	±	+	+	#
・	pH 10	±	±	+	+	#
・	pH 11	±	±	+	+	+

また、同様にして調製したリゾチーム水溶液を苛性ソーダでpHを8, 9, 10及び11に調整し、それぞれの析出物をメンブランフィルターで除去したものを塩酸にて、弱酸性としたのち、前記と同様に塩化ナトリウム0.6g、ホウ酸1.0g、ホウ砂適量、デキストリン0.5g及びグルコン酸クロルヘキシジン0.01gを添加し、精製水で全量100ml (pH5.0) とし、試料2〜5とした。

新しく得た各試料を飯櫃戸越し、無菌の白色アンプルに無菌的に充満密封し、安定性の試験を行った。

安定性は、70℃の恒温槽中に放置する加熱維持試験 (恒温70℃) 及び50℃の温度で150往復/分の振盪を120時間行う振盪維持試験によつて行い、次の基準で判定した。その結果は第1表のとおりである。

加熱維持試験：(―)変化なし、(出)微白濁、

(+)白濁微沈、(++)白濁沈殿

振盪維持試験：(―)変化なし、(出)微存遊物、

(+)多量の存遊物、(++)白濁

実施例 2

実施例1と同様に塩化リゾチーム0.5gを全量25mlになるように精製水に溶解し、リゾチーム水溶液を調製した。このリゾチーム水溶液を第2表に示すそれぞれの温度でマグネチック・スターラーを用いてゆつくり攪拌しながら1時間加熱処理し、析出物をメンブランフィルターで除去したものに塩化ナトリウム0.6g、ホウ酸1.0g、ホウ砂適量及びデキストリン0.5gを溶解し、それ

ぞれ精製水で全量100ml (pH5.0) とした。

新しく得たそれぞれの試料について実施例1と同様にして安定性の試験を行った。

その結果は第2表の通りである。

第 2 表

加熱処理温度	加熱維持試験* (時)				振盪維持試験
	24	48	72	96	
室 温	—	+	#	#	+
40℃	—	—	+	#	±
50℃	—	—	+	#	±
60℃	—	—	+	#	±
65℃	—	+	#	#	±
70℃	—	+	#	#	±
80℃	—	+	#	#	#

判定基準は第1表に同じ。

* 室温放置24時間後の結果を判定した。

実施例 3

実施例1と同様に調製したリゾチーム水溶液を50℃でマグネチック・スターラーを用いてゆつくりと攪拌しながら1時間加熱処理し、析出物をメンブランフィルターで除去した。この水溶液に塩化ナトリウム0.6g、ホウ酸1.0g、ホウ砂適量を溶解し、これに第3表に示す如く塩化ベンザルコニウム又は(及び)デキストリンを添加し、その安定性を実施例1と同様にして調べた。その結果は第3表の通りである。

第 3 表

添 加 剤 (g)	加熱維持試験* (時)				振盪維持試験
	24	48	72	96	
デキストリン(0.5)	—	—	±	+	+
塩化ベンザルコニウム (0.01)	—	—	±	+	—
デキストリン(0.5) 塩化ベンザルコニウム (0.01)	—	—	—	±	—

(注) (―), (出), (±)及び(++)は第1表に同じ。

* 室温放置5時間後の結果を判定した。

実施例 4

実施例 1 と同様にして調製したリゾチーム水溶液を 55℃ で 1 時間マグネチックスターラーにてゆつくり攪拌しながら加熱処理し、析出物をメンブランフィルターで除去し、これに塩化ナトリウム 0.5 g、ホウ酸 1.0 g、ホウ砂適量を溶解した。このものに第 4 表に示す量（全組成に対する W/V % で示す）の塩化ベンザルコニウム及びデキストリン又は β -シクロデキストリンを添加し精製水で全量 100 ml とし、その安定性を調べた。安定性試験の方法及び判定基準は実施例 1 と同様にして行った。その結果は第 4 表及び第 5 表の通りである。

以下余白

第 4 表

塩化ベンザルコニウム (W/V %)	デキストリン (W/V %)	加熱処理試験* (時間)				振盪處理試験
		24	48	72	96	
—	0.5	—	—	±	+	+
0.0001	・	—	—	—	+	+
0.001	・	—	—	—	+	—
0.005	・	—	—	—	—	—
0.01	・	—	—	—	—	—
0.05	・	—	—	—	—	—
0.1	・	—	—	—	—	—
0.01	—	—	—	±	+	±
・	0.01	—	—	—	+	±
・	0.05	—	—	—	+	±
・	0.1	—	—	—	±	—
・	0.25	—	—	—	±	—
・	0.5	—	—	—	—	—
・	1	—	—	—	—	—

第 5 表

塩化ベンザルコニウム (W/V %)	β -サイクロデキストリン (W/V %)	加熱処理試験* (時間)				振盪處理試験
		24	48	72	96	
0.01	—	—	—	±	+	±
・	0.01	—	—	—	+	±
・	0.05	—	—	—	±	±
・	0.1	—	—	—	±	—
・	0.25	—	—	—	±	—
・	0.5	—	—	—	—	—
・	1	—	—	—	—	—

* 室温放置 24 時間後、結果を判定した。

実施例 5 点眼剤

(組成)

塩化リゾチーム	0.5 g
ホウ酸	1 g
ホウ砂	0.021 g
塩化ナトリウム	0.3 g

デキストリン 0.6 g
塩化ベンザルコニウム 0.1 ml
(10% W/V)
精製水 全量 100 ml

(製法)

塩化リゾチームを全量 25 ml となるよう精製水に溶解し、マグネチックスターラーを用い、55℃ で 1 時間ゆつくり攪拌しながら加熱処理し、塩化リゾチーム水溶液を得た。以下常法に従い点眼剤を製造した。

以上

出願人 エスエス製薬株式会社

代理人 弁理士 有 賀 三 幸

弁理士 高 野 登志雄